

A91- A92

## JP5292899

Publication Title:

JP5292899

Abstract:

Abstract of JP5292899

**PURPOSE:**To efficiently obtain the subject capsule causing no injury to human bodies, excellent in safety and edible property and useful for foods and medicines, etc., by using a transglutaminase as a coat curing agent in a complex coacervation method using a hydrophobic substance as a core substance, a protein and a polysaccharide. **CONSTITUTION:**The objective capsule is obtained by using a transglutaminase as a coat curing agent in a complex coacervation method using one kind or two or more kinds of hydrophobic substances selected from alpha-linolenic acid, eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, flavor and a vitamin and used as a core substance, a protein such as gelatin and a polysaccharide such as gum arabic. Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

-----  
Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-292899

(43)公開日 平成5年(1993)11月9日

(51)IntCl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L 1/00	C	8214-4B		
A 2 3 P 1/04				
B 0 1 J 13/10				
// A 2 3 L 1/22	A	8114-4B		
		8317-4G	B 0 1 J 13/02	G
審査請求 未請求 請求項の数7(全 7 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号	特願平4-163013	(71)出願人	000000066 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目15番1号
(22)出願日	平成4年(1992)6月22日	(72)発明者	川名 秀明 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社食品総合研究所内
(31)優先権主張番号	特願平3-248551	(72)発明者	伊藤 和子 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社食品総合研究所内
(32)優先日	平3(1991)6月24日	(72)発明者	宮川 久雄 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社食品総合研究所内
(33)優先権主張国	日本 (J P)		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 マイクロカプセルの製造方法

(57)【要約】

【目的】 従来硬化剤にアルデヒド類を使用している為に食用には供し得なかったコアセルベーション法によるマイクロカプセルの製造方法において、従来になし食用可能なマイクロカプセル提供を目的とする。

【構成】 本発明はコアセルベーション法によるマイクロカプセルの製造方法において、従来から用いられてきたアルデヒド類に代えてトランスグルタミナーゼを硬化剤に用いることにより食用可能なマイクロカプセルを得ることを特徴とする。  $\alpha$ -リノレン酸, EPA, DHA, フレーバー含有油脂, アミノ酸含有油脂, ビタミン含有油脂等の油脂、及び水溶性物質を芯物質として内包させることができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 疎水性物質を芯物質とする蛋白質と多糖類からなるコンプレックスコアセルベーション法において、トランスグルタミナーゼを被膜硬化剤として用いることを特徴とするマイクロカプセルの製造方法。

【請求項2】 蛋白質がゼラチンであることを特徴とする請求項1記載のマイクロカプセルの製造方法。

【請求項3】 多糖類がアラビアゴムであることを特徴とする請求項1記載のマイクロカプセルの製造方法。

【請求項4】 疎水性物質が $\alpha$ -リノレン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、フレーバー及びビタミンの内から選ばれた1種又は2種類以上の物質である請求項1記載のマイクロカプセルの製造方法。

【請求項5】 疎水性物質と共に蛋白質、アミノ酸及び核酸の内から選ばれた1種又は2種以上の物質を芯物質とする請求項1記載のマイクロカプセルの製造方法。

【請求項6】 蛋白質と多糖類からなるコンプレックスコアセルベーション法において、疎水性物質と酵素を芯物質とし、トランスグルタミナーゼを被膜硬化剤として用いることを特徴とする固定化酵素の製造方法。

【請求項7】 トランスグルタミナーゼを含有するコンプレックスコアセルベーション法における硬化剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はコンプレックスコアセルベーション法におけるマイクロカプセルの製造方法に関する。更に詳細には、コアセルベートを硬化する際に、硬化剤として従来用いられているアルデヒド類に代えてトランスグルタミナーゼ（以下、TGと略記することがある）を使用することにより得られる可食性マイクロカプセルの製造方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 疎水性物質を含むマイクロカプセルの製造方法としては、例えば米国特許第2800457号に記述されるコンプレックスコアセルベーション法が代表的であり、実用化に際してはほとんどの場合壁膜形成物質としてゼラチン-アラビアゴム系が用いられていることは周知の通りである。この方法は、電荷を持つ親水性コロイド水溶液中に疎水性物質を乳化あるいは分散させる工程（乳化工程）、この乳化物に先のコロイドと反対の電荷を持つ親水性コロイド水溶液を添加し水により希釈した後pHを調整してコアセルベーションを生起し核（芯）となる疎水性物質の周囲にコロイドを堆積させたコアセルベートを得る工程（コアセルベーション工程）、コアセルベートを冷却して固化させる工程（ゲル化工程）、コアセルベート壁膜を不溶化させる工程（硬化工程）より成り、硬化剤としては通常ゼラチンの不溶化剤として知られているアルデヒド類、ジケトン類、エポキシド類、酸無水物や酸塩化物類、無機塩類等の化合物が一般に用いられるが、その中で効果、コスト、供給

といった観点からアルデヒド類が代表的に使用されている。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、コアセルベーション法によるマイクロカプセル製造方法は、従来食品製造に用いられてきた他のカプセル化法に比し、非常に粒径の小さなものが得られる等のメリットがあるものの、硬化剤として人体に対して好ましくない性質を有する試薬であるアルデヒド類等化合物を使用するため食用には適さないものである。従って、可食性マイクロカプセルを求めようとした場合、アルデヒド類その他の硬化剤は使用することが出来ない。またこの硬化剤はゼラチンの不溶化剤であり、アラビアゴムはカプセル壁形成後に離脱することはよく知られている。そこで、本発明の目的は人体に害を及ぼさない、可食性マイクロカプセルの製造方法の提供をその課題とする。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、硬化剤としてアルデヒド類等化合物に代えてトランスグルタミナーゼ（以下、TGと略する）を使用することにより、食用可能なマイクロカプセルを安全かつ簡便な方法で得られることを見出し本発明を完成するに至った。

【0005】 即ち、本発明は、疎水性物質を芯物質とする蛋白質と多糖類からなるコンプレックスコアセルベーション法において、TGを被膜硬化剤として用いることを特徴とするマイクロカプセルの製造方法である。詳細には、ゼラチン等の蛋白質1～10%とアラビアゴム等の多糖類1～10%を含む20～80℃の水溶液中に疎水性物質及びTGを分散し、コアセルベーション生成領域にpHを調整することによってコアセルベート層を生起せしめた後、20～80℃の条件に保つことによりコアセルベート層中においてゼラチン等の蛋白質、TGによる架橋反応を進行させ、コアセルベートを硬化させることを特徴とするマイクロカプセルの製造方法である。

【0006】 本発明では、溶液中の蛋白濃度がTGが作用しない程度の希薄な状態にしてから、TGを添加し、その後コアセルベートを生起せしめることで蛋白濃度の高いコアセルベート層とTGを作用させることにより、コアセルベート壁膜を形成する蛋白質中のグルタミン酸残基の $\gamma$ -カルボキシアミド基のアシル転移反応によりこの蛋白質を架橋高分子化させることができる。TGの添加方法としては疎水性物質中に分散して添加することも、周囲の水溶液中に添加することも可能である。このように、TGを用いることにより、アルデヒド類等化合物による不溶化処理を施すことなくコアセルベート壁膜を硬化させることによりマイクロカプセルを得ることができる。

【0007】 本発明に用いられるTGは、TG活性がある限りその起源を特に問わず、いずれの種類のTGを用

いても良い。例えば、ストレプトベルチリウム (Streptoverticillium) 等に属する微生物由来のもの (BTGと略記する。尚、特開平1-27471参照)、モルモット等の哺乳動物由来のもの (MTGと略記する。尚、特公平1-50382参照)、水産動物由来のもの (関信夫ら、昭和63年度日本水産学会秋季大会講演要旨集167頁及び平成2年度日本水産学会春季大会講演要旨集219頁参照)、バイオテクノロジー技術を使用して遺伝子組換えによって得られるもの (特開平1-300889参照) 等を用いることができる。しかし、その中でもカルシウム非依存性であり、かつ大量に取得できるBTGを用いる方が好ましい。

【0008】本発明に用いられる疎水性物質は特に限定するものではないが、例えばコーン油、大豆油、菜種油、落花生油、パーム油等の植物油、魚油、ラード、ヘッド等の動物油、 $\alpha$ -リノレン酸、エイコサペンタエン酸 (EPAと略する)、ドコサヘキサエン酸 (DHAと略する) といった脂肪酸等を挙げることができる。また食用ワックス類を用いても何等差し支えない。これらは単独あるいは配合して用いられ、目的に応じ適宜選択することができる。この油脂に、フレーバー組成物、ビタミン等油溶性物質、調味料、香辛料、乳化剤等を含有させたり、あるいは着色剤を添加したりすることは何等差し支えない。要するに、これらを目的に応じて単独又は複数配合することができる。尚、ここで述べるフレーバー組成物とは例えば、ミートフレーバー、かつお節フレーバー等の畜肉魚介類に関連したものや、果実フレーバー、野菜フレーバー等が挙げられる。油溶性ビタミン類としては、ビタミンA、D、E、F、K等を挙げることができる。これらを、目的に応じて、単独又は複数配合しても良い。使用される疎水性物質の量は、特に制限はないが、通常皮膜となるゼラチンに対して、重量比で1-10程度である。

【0009】尚、以上については主として疎水性の素材について言及してきたが、コアセルベートは、性質上内部に蛋白質、アミノ酸、核酸、酵素のような水溶性の物質も取り込みことができるので、疎水性物質と共に蛋白質、アミノ酸及び核酸の中から選ばれた1種又は2種以上の物質を芯物質とすることもできる。TGによりカプセル壁を硬化させる本発明においては、コアセルベートがそのままカプセル化されるため、上記水溶性物質についても充分カプセル内に保持し得るものである。また、疎水性物質と酵素を芯物質として用いることもできる。このようにして得られたマイクロカプセルは固定化酵素として使用できる。即ち、本発明は蛋白質と多糖類からなるコンプレックスコアセルベーション法において、疎水性物質と酵素を芯物質とし、トランスグルタミナーゼを被膜硬化剤として用いることを特徴とする固定化酵素の製造方法でもある。

【0010】さて、本発明のコンプレックスコアセルベ

ーション法に用いられる蛋白質は、ゼラチン、カゼイン、大豆蛋白、コラーゲン等種々の酸性及び塩基性の可食蛋白質であれば、特に限定するところではない。しかし、使い易さやカプセル化能が高いゼラチンが最も適している。

【0011】本発明で用いられる多糖類は、アラビアゴム、ナトリウムアラビナイト、寒天等種々の可食多糖類であれば特に限定するものではない。しかし、一般的によく用いられるアラビアゴムが本発明においても最も好ましい。

【0012】本発明中の蛋白質、油脂、水からなるエマルション及び多糖類の重量比は通常コアセルベーションが生起する範囲内であれば何等差し支えない。これらの重量比は目的に応じて適宜選択することが出来、これをコントロールすることにより求める粒径のマイクロカプセルを製造することが可能である。しかし、通常、溶液中にゼラチン等の蛋白質を1-10%、アラビアゴム等の多糖類1-10%を含むように調製したものを用いる。この溶液に疎水性物質及びTGを分散させ、コアセルベーション生成領域にpHを調整 (使用する蛋白質、多糖の種類、組合せにより異なるが、蛋白質としてゼラチン、多糖としてアラビアゴムを用いる時は通常pH4-5.5に調整) することによってコアセルベート層を生起させる。次に、20-80℃の条件で、一定時間保つことによりコアセルベート層中においてゼラチン等の蛋白質のTGによる架橋反応を進行させ、コアセルベートを硬化させ目的とするマイクロカプセルを製造することができる。尚、反応時間をコントロールすることにより、所望の特性、例えば徐放性がコントロールされたマイクロカプセルを調製することができる。反応温度、反応時間は皮膜強度を変化させる因子であるからである。

【0013】TGを作用させる際の条件としては、TGが触媒活性を発現できる範囲で、かつコアセルベーションが生起できる範囲であれば適宜選択することが出来る。通常、系の温度が約20-80℃、pHが約4-8の範囲内であれば特に酵素活性を著しく阻害する物質が混在していない限り目的とするアシル転移反応を行わせることが出来る。また、TGの添加量については、コアセルベート系内に存在する蛋白質1gあたり約0.01-500単位 (この単位については特開平1-27471参照) が望ましく、更に好ましくは0.1-100単位である。この理由としては、酵素濃度がこの範囲より低い場合には充分な反応が起きない為であること、この範囲より高い場合には反応のコントロールが困難となること等が挙げられる。

【0014】更に、TGを作用させて被膜を硬化せしめる工程において、カプセル粒子間の凝集、結着を防止するために、特公昭47-16167に見られるごとく、アカシアトラガント、メチルセルローズ、カルボキシルメチルセルローズ等の濃化剤を添加することもできる。



【0015】上記のようにして製造されたマイクロカプセルを、熱風乾燥、凍結乾燥等の通常の乾燥手段を用いて乾燥後、そのまま使用することも可能だが、これを更に凍結乾燥した後粉碎したマイクロカプセルを用いても良い。このとき、凍結乾燥並びに粉碎方法については、従来行われている方法であればいずれでも良く、特に限定するところではない。

#### 【0016】

【発明の効果】本発明は、マイクロカプセルの膜の硬化剤としてアルデヒド類等化合物を使用するため従来は食品製造には応用出来なかったコアセルベーション法において、硬化剤をアルデヒド類に代えてTGを使用することにより、非常に粒径の小さなカプセルが得られるというコアセルベーション法のメリットを損なうことなく活用し、また油溶性物質に限らず水溶性物質をも保持する機能を有しかつ食品として供することが可能な可食性マイクロカプセルを安全かつ簡便に得られる方法を提供し得るものである。

【0017】また、カプセル被膜を硬化させる工程においてTGの添加量、反応温度及び反応時間を調整することにより、カプセル内の芯物質の放出条件を制御することも可能である。即ち、硬化反応の進行度を調整することにより、種々の耐圧強度、溶解温度、細孔径を有する被膜を形成する事ができる。このため本方法によれば、徐放性をコントロールされた香料カプセルや、目的温度でのみ放出するカプセル等を製造することも可能である。

【0018】更に、その結果、人間の食用に留まらず用途が拡大し、例えば養殖される水産動物、例えば、クルマエビ、ブラックタイガー等の甲殻類、ハマチ、ウナギ、アユ等の魚類等の初期飼料の製造方法としても大変有効である。即ち水産初期飼料の求められる性状としては、成長促進因子等の水溶性物質はその仔稚魚が捕食可能な粒径で耐水性に加工されていなければならず従来不可能であったが、本発明によってこの加工も可能となる。

【0019】近年健康食品としてニーズが高いが酸化し易く不安定な $\alpha$ -リノレン酸やEPA、DHAのほかフレーバー組成物やビタミン類等の物質のカプセルは、粒径の大きなものは既に存在しているが、マイクロカプセル化したものは存在しなかった。しかし、本発明によりEPA、DHA等の物質もマイクロカプセル化、かつ安定化が可能となる。また、本発明はTGを含有するコンプレックスコアセルベーション法における硬化剤でもある。硬化剤中に、TGを0.1-10.0重量%含有していれば良い。TG以外のマンニトール等の安定化剤を本発明の硬化剤に配合させてもよい。

#### 【0020】

【実施例】以下、本発明を実施例み基づき説明する。尚、本発明は実施例に限定されるものではない。

【0021】（実施例1）株式会社ニッピ（社）製酸処理ゼラチン5gとシグマ社製アラビアゴム3gを50℃の温水300gに溶解した水溶液と味の素（株）社製コーンサラダ油25gに、水溶液中のゼラチン1gあたり20単位のBTG（特開平1-27471の実施例1の方法により得たもの）を添加し、日本精機（株）社製エースホモジナイザーにて10,000rpm/分、5分間乳化を行った。この乳化液を50℃湯浴中で攪拌させておき1N-NaOHによりpHを5に調整してコアセルベーションを生起させ、50℃湯浴中で120分間反応させた。反応開始から、60分後に攪拌を停止し、静置すると50-60 $\mu$ mのカプセルが沈殿した。次に、デカンテーションによりカプセルを取り出し、50℃にて熱風乾燥をおこなったところ、カプセルの溶解及び油の溶出は観察されず、油を内包するカプセル粉体を得た。また、これを25℃及び80℃の水中に投入したところ、いずれの場合も油の溶出は観察されなかった。尚、コーンサラダ油の代わりに、EPA、DHA、 $\alpha$ -リノレン酸及びアミノ酸含有油脂をそれぞれ用いても同様の結果が得られた。

【0022】（実施例2） 反応時間による放出温度の制御

実施例1と同様の製造方法において、コアセルベーション生起後の反応時間を60分間としてカプセルを製造した。デカンテーションによりカプセルを取り出し、50℃にて熱風乾燥をおこなったところ、カプセルの溶解及び油の溶出は観察されず、実施例1同様に油を内包するカプセル粉体を得た。これを25℃の水中に投じた場合には油の溶出は観察されなかったが、80℃の熱水中に投入した場合については、実施例1と異なり油の溶出が見られた。この結果から分かるように、TGの反応時間を短縮することにより、高温で徐放性を有するマイクロカプセルを製造することに成功した。

【0023】（実施例3） 酸化安定化効果

実施例2のコーンサラダ油の代わりに同量のえごま油を用いて粉末マイクロカプセルを製造した。得られたカプセルを常温条件において保存し、その酸化安定性を調べた。比較のため、デキストリンを吸着剤とした噴霧乾燥もの及びサイクロデキストリンにより包接したえごま油粉末を製造し、同条件の保存試験に供した。7日毎にサンプルを取り出し、過酸化価を測定した。測定方法は、エーテルにより粉末中から油を抽出した後、JAS法による測定法に従い、分析を行った。結果を図1に示す。本法により粉末化されたえごま油は他の方法に較べて極めて高い酸化安定性を示した。図1中のPOVは過酸化価を示し、数値が高い程酸化を受けたことをしめす。尚、同様に魚油中のEPA、DHAを用いた実験においても同じ結果が得られた。

【0024】（実施例4） フレーバーの安定化効果

実施例2のコーンサラダ油の代わりに同量の魚介フレー

バー含有油脂を用いてマイクロカプセルを製造した。得られたカプセルを24℃において保存し、カプセル化したフレーバーの劣化度の変化を調べた。実施例3同様に比較試験のため、デキストリンを吸着剤とした噴霧乾燥もの及びサイクロデキストリンにより包接したフレーバー粉末を製造し、同条件の保存試験に供した。フレーバーの劣化度は製造直後のフレーバー粉末をコントロールとする2点比較による官能評価によって決定した。結果を図2に示すように、本法により粉末化されたフレーバーは他の方法に較べて極めて高い安定性を示した。

【0025】(実施例5) フレーバーの徐放効果  
実施例1のコーンサラダ油の代わりに同量の香気成分(リモネン)含有油脂を用いてマイクロカプセルを製造した。製造にあたっては、コアセルベーション後の反応時間を60分(サンプル1)及び120分(サンプル2)の2種のカプセルを調製し、カプセルから放出される香気成分の放出速度を測定した。放出速度測定は、デシケータ中のシャーレにカプセルを薄く充填し、一定速度で空気を通過させ、通過空气中に揮発した香気成分をコールドトラップで捕集し、所定時間毎の捕集量により放出速度を求めた。結果を図3に示すように、本法により粉末化されたフレーバーはコアセルベーション後の反応時間の調整により徐放性の制御が可能であった。

【0026】(実施例6) ビタミンの安定化効果  
実施例1のコーンサラダ油の代わりに同量のビタミン含有油脂を用いてマイクロカプセルを製造した。このカプ

セルを用いて、水中での溶出率の経時変化を未被覆のビタミンと比較した。結果を図4に示すように、本法によりカプセル化されたビタミンは被覆性に優れ、熱、水分による分解を防ぐ効果が見られた。

【0027】(実施例7) 核酸、アミノ酸の安定化効果

実施例1のコーンサラダ油の代わりに同量の核酸含有油脂を用いてマイクロカプセルを製造した。これを核酸を分解するフォスファターゼを有する魚肉すり身中に混練し、加熱中の安定性を調べた。核酸残存率の判定は酵素分解による遊離リン酸の測定により行った。結果を図5に示すように、本法によりカプセル化された核酸は酵素分解に対する保護効果に優れていた。

【0028】(実施例8) 酵素の固定化

実施例1の工程において加えるTGを100単位とし、マイクロカプセルを製造した。この際、乾燥には熱風乾燥の代わりに凍結乾燥を用いた。乾燥後、カプセル中のTG残存酵素活性を調べたところ、90%の残存活性が得られた。

20 【図面の簡単な説明】

【図1】 ごま油の酸化促進試験結果を示す。

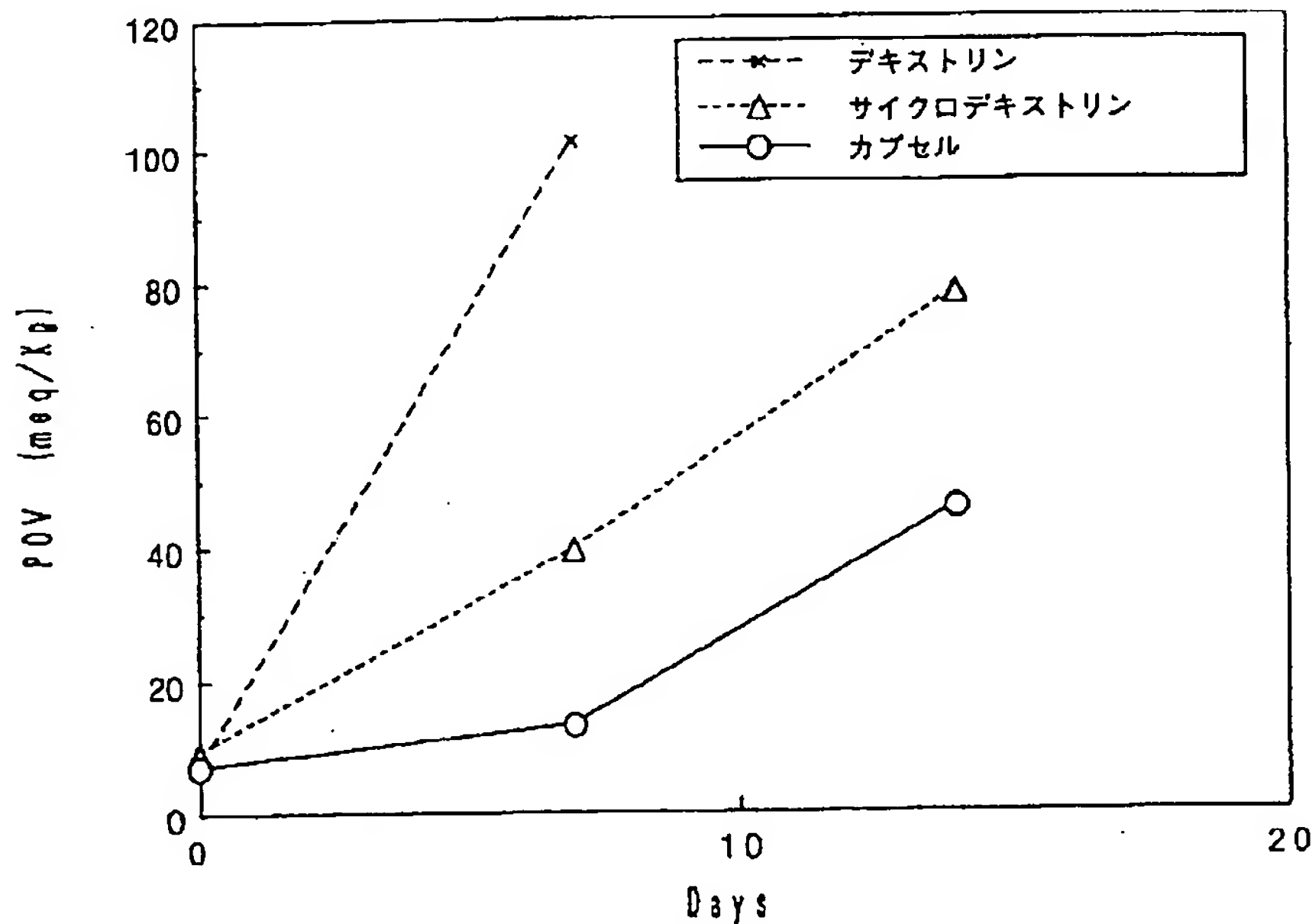
【図2】 フレーバの保存試験結果を示す。

【図3】 香気成分の放出挙動を示す。

【図4】 ビタミンの溶出試験結果を示す。

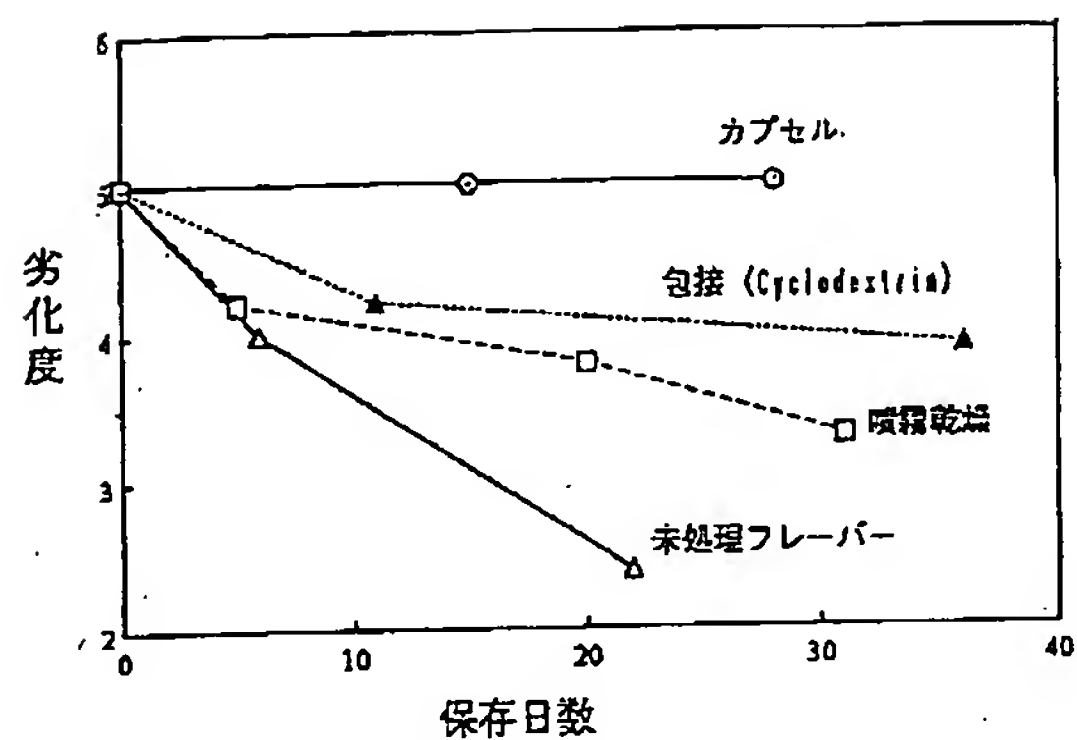
【図5】 核酸の安定性を示す。

【図1】



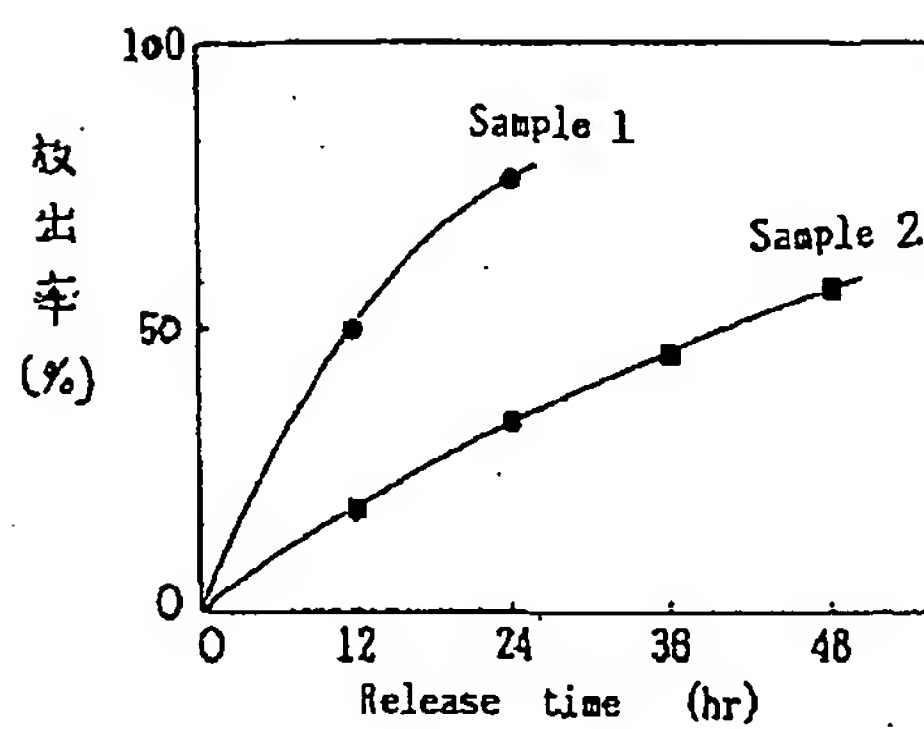
えごま油の酸化促進試験結果

【図2】



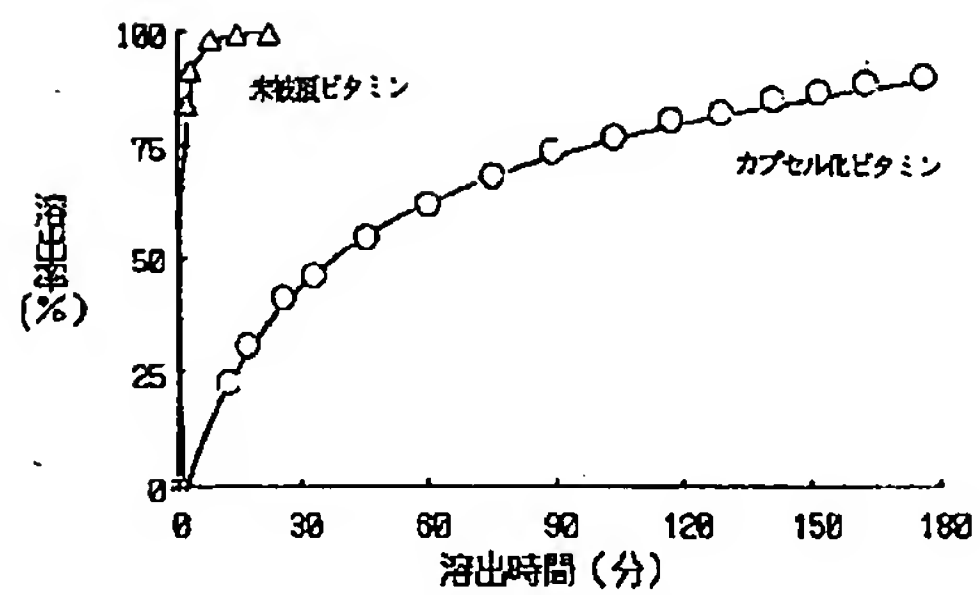
フレーバーの保存試験結果

【図3】



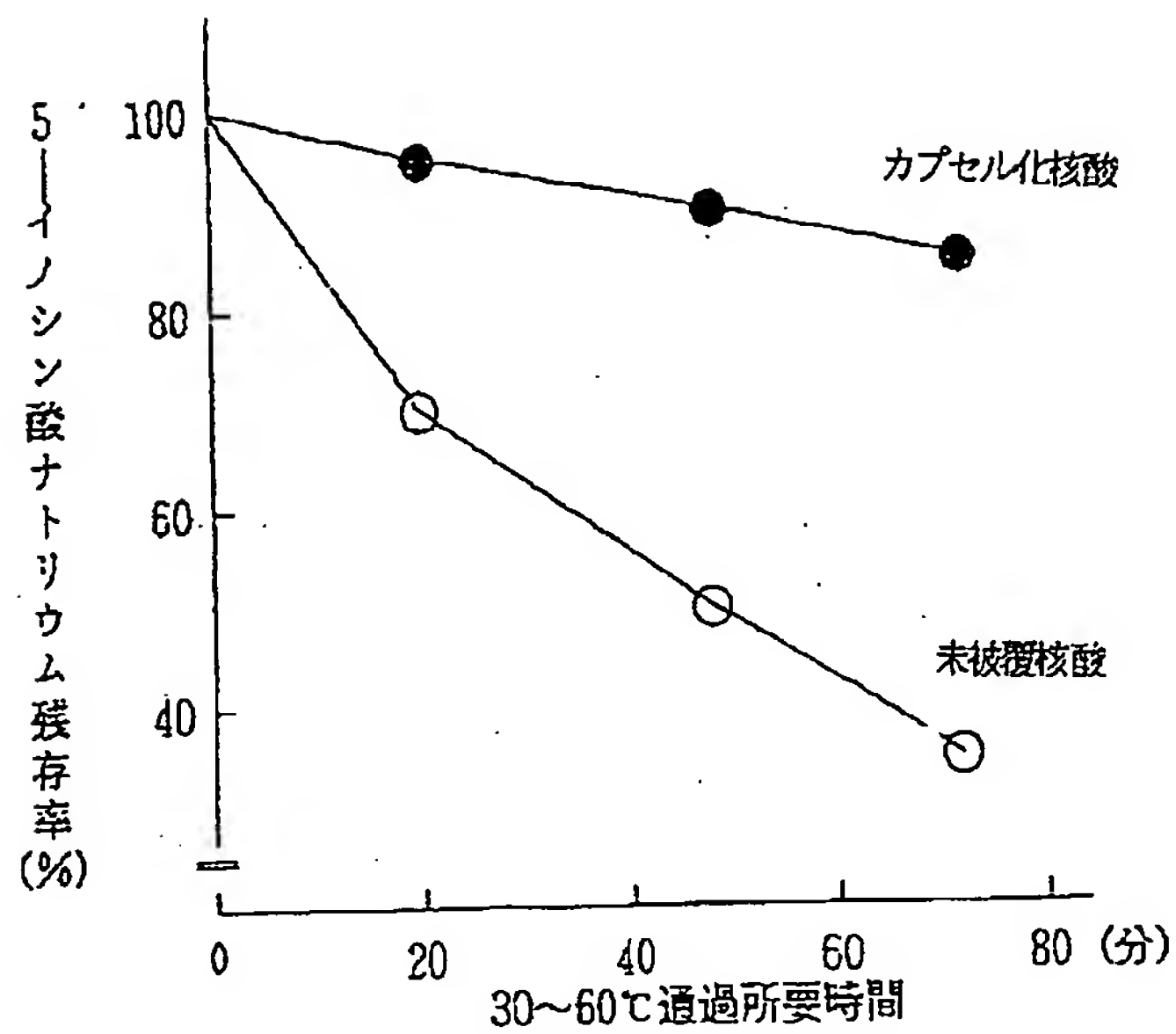
香気成分の放出挙動

【図4】



ビタミンの溶出試験結果

【図5】



核酸の安定性

フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

A 2 3 L 1/48

(72) 発明者 加藤 千壽

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の  
素株式会社食品総合研究所内

(72) 発明者 添田 孝彦

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の  
素株式会社食品総合研究所内



```
##          ##
#          #
### #  ## ###  #####  # ###  #####  ## ###  #####  #####
#  ##  ##      #  #  ##  #  #  #  ##  #  #  #  #  #  #
#  #  #  #      #  #  #  #  #####  #  #  #  #  #  #
#  #  #  #      #  #  #  #  #  #  #  #  #  #  #  #
#  ##  #  #      #  #  ##  #  #  #  #  #  #  #  #
### ## #####  #####  ## ###  #####  #####  ###  #####
```

Job : 1744  
Date: 9/1/2006  
Time: 12:59:43 PM